Aus der Medizinischen Universitätsklinik in Marburg
Direktor: Prof. Dr. G. A. Martini

Untersuchungen über die Eigenschaften von Lipoproteinen bei akuter Virushepatitis

INAUGURAL-DISSERTATION

zur Erlangung des Doktorgrades
der Zahnheilkunde des Fachbereiches Humanmedizin
der Philipps-Universität Marburg

vorgelegt von

Michael Ulrich Baumgarten
aus Helmstedt

Marburg 1973

Digitized by the Internet Archive
in 2026

https://archive.org/details/IA41546019_0086

Aus der Medizinischen Universitätsklinik in Marburg
Direktor: Prof. Dr. G. A. Martini

Untersuchungen über die Eigenschaften von Lipoproteinen bei akuter Virushepatitis

INAUGURAL-DISSERTATION

zur Erlangung des Doktorgrades
der Zahnheilkunde des Fachbereiches Humanmedizin
der Philipps-Universität Marburg

vorgelegt von

Michael Ulrich Baumgarten
aus Helmstedt

Marburg 1973

UNIV.
LEIDEN
BIBL.

Angenommen von dem Fachbereich Humanmedizin
der Universität Marburg am 10.7. 1973,
gedruckt mit Genehmigung des Fachbereiches Humanmedizin
Dekan: Prof. Dr. H. Oepen
Referent: Prof. Dr. A. Engelhardt
Correferent: Prof. Dr. H. Schnell

Meinen Eltern

in Dankbarkeit gewidmet

Inhaltsverzeichnis

		Seite
I.	Einleitung	1
II.	Methodik	3
III.	Ergebnisse	1o
	1. Auftrennungen der Lipoproteine auf Acetatfolien bei akuter Virushepatitis	1o
	2. Immunologische Bestimmung der α- und β-LP	16
	3. Bestimmung des Triglycerid-Cholesterin-Quotienten in den Lipidfraktionen	19
	4. Bestimmung der einzelnen HDL-Fraktionen in der Disc-Elektrophorese	19
	5. Bestimmungen weiterer Laborwerte	2o
IV.	Diskussion	21
V.	Zusammenfassung	24
	Literaturverzeichnis	I-VI

I. Einleitung

Veränderungen der Serumlipoproteine bei Verschlußikterus wurden von verschiedenen Autoren beschrieben (16,43,57). Von Seidel und Mitarbeitern (49-51) wurde ein atypisches Lipoprotein mit der Beweglichkeit eines β-Lipoproteins isoliert und charakterisiert. Es kommt nur bei Verschlußikterus vor und unterscheidet sich immunologisch und in seiner Lipidbeladung von den normalen Lipidfraktionen. Weiter finden sich unspezifische Veränderungen, nämlich ein Anstieg der LDL(Low-Density-Lipoproteins) und ein Abfall der HDL(High-Density-Lipoproteins) bei verschiedenen Ikterusformen, vor allem bei Virushepatitis und biliärer Cirrhose (4,29,32,42,54). Untersuchungen unseres eigenen Arbeitskreises (18) zeigten, daß sich im Verlauf einer Virushepatitis die Werte aller Serumlipide signifikant verändern und sich anschließend wieder normalisieren. Bei gleichzeitigem Anstieg der β-Lipoproteine sinken die α- und praeβ-Lipoproteine ab und erreichen gegen Ende der Erkrankung wieder Normalwerte. Die densitometrisch gewonnenen Bilder sprechen dafür, daß die praeβ-Fraktion nicht wirklich vermindert, sondern lediglich von der β-Fraktion nur schwer abzugrenzen ist. Diese Beobachtungen, die von Vogt (59) bestätigt wurden, lassen erkennen, daß bei Hepatitis nicht eine Verminderung, sondern eine Änderung der Eigenschaften der praeβ-Lipoproteine im Sinne einer veränderten Wanderungsgeschwindigkeit vorliegt. Seidel (53) konnte bei schweren Leberschäden ebenfalls eine veränderte elektrophoretische Mobilität der VLDL(Very-Low-Density-Lipoproteins) aus der α_2- zur β-Position nachweisen. Vogt (59) fand darüber hinaus bei akuter und subakuter Leberdystrophie ein völliges Verschwinden der praeβ-Bande.
Diese Beobachtungen sprechen für quantitative oder qualitative Veränderungen der betroffenen Lipoproteine. Auch hierfür liegen bereits Anhaltspunkte vor: Seidel(53) konnte bei Leberschäden eine Dissoziation des Apoproteins A mit Verlust zur Lipidbindung von Cholesterin und Triglyceriden nachweisen. Russ und Mitarbeiter (45) fanden bei einem Fall von biliärer Cirrhose im Bereich der β-Globoline eine verminderte

Lipidbeladung und ein verändertes Verhältnis Cholesterin/ Phospholipide bei erheblich verminderten α-Lipoproteinen. Der größte Teil der Plasmalipide war an atypische Peptide gebunden.

In eigenen Untersuchungen wurden die Eigenschaften der Serumlipoproteine bei Patienten mit akuter Virushepatitis untersucht. Hierzu wurden 5 verschiedene Methoden angewendet:

a) Auftrennung der Lipoproteine auf Acetatfolien und semi-quantitative densitometrische Auswertung nach Anfärbung mit Ölrot

b) Quantitative Bestimmung der β-Lipoproteine durch radiale Immundiffusion

c) Quantitative immunelektrophoretische Bestimmung der α-Lipoproteine nach Laurell

d) Immunologischer Nachweis der α- und β-Lipoproteine und Bestimmung des Triglycerid-Cholesterin-Quotienten in den Fraktionen nach präparativer Ultrazentrifugation

e) Bestimmung der HDL-Fraktionen durch Disc-Elektrophorese

II. Methodik

Patientenkollektiv

Untersuchungen der Serumlipoproteine wurden bei 2o stationären Patienten mit akuter Virushepatitis der Medizinischen Universitätsklinik in Marburg durchgeführt. Die Beobachtungszeit betrug 1-8 Wochen. Als Krankheitsbeginn wird das Auftreten des Ikterus gerechnet (11,29). Da die Patienten nicht immer im gleichen Stadium der Erkrankung in die Klinikbehandlung eintraten, sind die Mittelwerte der einzelnen Wochen nicht von der gleichen Patientenzahl gewonnen. Blut wurde 1-2 mal wöchentlich während des ganzen stationären Aufenthaltes entnommen. Aus den gleichen Serumproben wurden folgende Routineuntersuchungen ausgeführt: alkalische Phosphatase, GOT, GPT, Bilirubin, Cholesterin, Triglyceride.

Bestimmungsmethoden

a) Auftrennung der Lipoproteine auf Acetatfolien und semiquantitative densitometrische Auswertung nach Anfärbung mit Ölrot (7,23,25)

Reagenzien

Elektrodenpuffer: Michaelispuffer (4o) pH 8,6 Ionenstärke o,1M.
Stammlösung: 49,o5 g Barbital-Na (5,5 Diäthylbarbitursäure Na-Salz, Fa. Merck Nr. 5oo 538) und 19,8 g Na-Acetat (Fa. Merck Nr. 6268) in 4,5 l demin. Wasser lösen; nach Korrektur des pH-Wertes auf pH 8,6 mit ca. 35 ml 1n HCl weiter mit demin. Wasser auf 5 l auffüllen.
Gebrauchslösung: 6oo ml Stammlösung mit 4oo ml demin. Wasser mischen.

Farbstofflösung: 1 g Ölrot O (Fa. Serva Nr. 31 17o) in 1 l reinem Methanol (Fa. Merck Nr. 6oo6) suspendieren. Unmittelbar vor Gebrauch werden 1oo ml der Stammsuspension mit 4o ml demin. Wasser gemischt. Für die Farbstofflösung sollte anstelle einer Plastikwanne eine Glasschale verwendet werden, da der Farbstoff das Plastikmaterial bleibend einfärbt.

Bleichlösung: 1 ml Natriumhypochloritlösung mit ca 13% aktivem Chlor (Fa. Merck Nr. 5614) und 100 ml 15proz. Essigsäure mischen. Die Bleichlösung ist erst unmittelbar vor Gebrauch frisch anzusetzen.

6proz. Trichloressigsäure

15proz. Essigsäure

Celluloseacetatfolien 25,5 x 145 mm (Fa. Sartorius-Membranfilter Göttingen Nr. 11 200)

Apparate

Trennkammer: Boskamp mikrophor mit Netzgerät (Fa. Vogel Gießen Nr. LS 120R/S). Die Serumproben wurden mit einem Makrostempel der Fa. Boskamp für die Lipidelektrophorese aufgetragen.
Zum Auswerten der angefärbten Celluloseacetatfolien wurde ein Vitatron TLD 100 Densitometer mit einer Quarzjodidlampe (Filter: 577 nm, Blende: 2,5 x 0,25 mm Spaltbreite) verwendet.

Arbeitsgang

Die Celluloseacetatfolien werden in üblicher Weise in Michaelispuffer luftblasenfrei getränkt, zwischen Filterpapier getrocknet, bis die Folien gerade noch feucht sind, und über eine Spezialbrücke gespannt, die den Abmessungen der Folien entspricht. Die Enden der Folien müssen in den Puffer getaucht sein. Serum wird 2 mal (2x2µl) mit dem Auftragsstempel 1 cm von der Perforierung der Folien entfernt aufgetragen. Trennzeit: 60 Min. bei 200 V und 5-10 mA.
Nach der Trennung werden die Streifen 1 Min. in 6proz. Trichloressigsäure gelegt, anschließend 45 Min. in der Ölrotlösung angefärbt. Nach Ende der Färbeperiode werden die Streifen kurz mit Leitungswasser abgespült und 10 Sek. in die Bleichlösung gelegt. Die Streifen werden unmittelbar danach 5 Min. in einer Schale mit 15proz. Essigsäure gespült und anschließend 30 Min. in eine zweite Schale mit 15proz. Essigsäure gelegt. Sie werden dann mit Leitungswasser gut abgespült und entweder sofort in feuchtem Zustand mit dem Densitometer ausgewertet oder in demin. Wasser aufbewahrt.

b) Quantitative Bestimmung der β-Lipoproteine durch radiale Immundiffusion (3,48)

Material

Partigen-Immundiffusionsplatten zur quantitativen Bestimmung von β-Lipoproteinen (Behringwerke Marburg-Lahn Nr. M./R.187o)

Biochemica Testkombinationen zur Bestimmung der β-Lipoproteine (Fa. Boehringer Mannheim Nr. 15945 TLAG)

Arbeitsgang

Herstellung eines Standardserums und Bestimmung der Konzentration an β-Lipoproteinen: Es wurde ein Poolserum aus 35 Serumproben von Personen ohne Zeichen einer Lebererkrankung hergestellt. Diese Serummischung wurde in kleine Portionen von je 1 ml in Reaktionsgefäßen des Eppendorf-Systems aufgeteilt und bei -2o°C tiefgefroren aufbewahrt. Bei diesem Vorgehen vermeidet man eine Schädigung des Serums durch öfteres Auftauen und Einfrieren ein und derselben Serumprobe. Die Konzentration der β-Lipoproteine des Pool-Serums wurde durch Fällung der β-Lipoproteine mit Heparin und $CaCl_2$ und Bestimmung des Cholesteringehaltes des Präzipitates nach der Methode von Burstein, Samaille und Watson (6,6o) gemessen (Biochemica Testkombination). Der β-Lipoproteingehalt des Standardserums wurde während der gesamten Testperiode mehrfach bestimmt und schwankte innerhalb der normalen Streubreite; er wurde als Standardkonzentration = loo% definiert. Nach Lees (36) besteht eine gute Korrelation zwischen chemisch und immunologisch gemessenen Werten für β-Lipoproteine.

Ausführung der Bestimmungen: Zur Aufstellung von Bezugskurven werden 4 Verdünnungen des Standardserums (1:3, 1:4, 1:6 und 1:8) in o,9proz. NaCl-Lösung hergestellt. Die Patientenseren werden 1:4 mit o,9proz. NaCl-Lösung verdünnt. Zur radialen Immundiffusion werden jeweils 2µl des verdünnten Standard- bzw. Patientenserums in die Stanzlöcher der Partigenplatte mit einer Mikroliterspritze eingefüllt. Nach 48 Stunden Aufbewahrung der Partigenplatte in einer feuchten

Kammer bei Raumtemperatur werden die entstandenen Präzipitatringe mit einer Meßlupe mit Zehntelmillimeterskala bei seitlicher Beleuchtung auf dunklem Untergrund ausgemessen. Gradlinig verlaufende Bezugskurven werden durch Auftragen der quadrierten Durchmesser der Präzipitatringe der Standardverdünnungsreihe gegen die Proteinkonzentration erhalten. Der Gehalt an β-Lipoproteinen der einzelnen Patientenseren kann an Hand der quadrierten Durchmesser der jeweiligen Präzipitatringe an der Bezugskurve abgelesen werden.

c) Quantitative immunologische Bestimmung von α-Lipoproteinen durch Elektrophorese in antiserumhaltigem Agarosegel nach Laurell (33-35)

Reagenzien

Elektrodenpuffer: Barbitalpuffer pH 8,6 Ionenstärke o,o2 M. Herstellung: 2o,6 g Barbital-Na (5,5 Diäthylbarbitursäure Na-Salz, Fa. Merck Nr. 5oo 538) und 4 g Barbital (5,5 Diäthylbarbitursäure, Fa. Merck Nr. 5oo 535) in 5 l demin. Wasser lösen.

Agarose (Behringwerke Marburg-Lahn Nr. M./R.2627)

Anti-α_1-Lipoprotein-Serum vom Kaninchen (Behringwerke Marburg-Lahn Nr. M./R.2843)

Färbelösung: 1 g Comassie Brilliant Blue (Fa. Serva Nr. 17525) in 9o ml 96proz. Äthanol, 2o ml Eisessig und 9o ml demin. Wasser lösen.

Entfärbelösung: Lösungsmittelgemisch der Färbelösung ohne Farbstoffzusatz.

Kontakt- und Trockenpapier: 1 mm dickes Filterpapier (Fa. Schleicher & Schüll Nr. 2668)

Apparate

Trennkammer: Immunelektrophoresekammer der Fa. Desaga Heidelberg (Nr. 68 53o) mit Netzgerät der Fa. Vogel Gießen (Nr. LS 12oR/S)

Mikroliterspritze (Fa. Hamilton-Bonaduz. Schweiz Nr. 7o2)

Arbeitsgang

Herstellung der Gelplatten: 1,5 g Agarose werden mit loo ml Barbitalpuffer vermischt, auf ca. loo°C erhitzt, bis die Lösung klar ist, und im Wasserbad auf 56°C abgekühlt. 13,5 ml dieser Agaroselösung werden mit 1,5 ml Anti-α_1-Lipoprotein-Serum gemischt. Diese 15 ml der warmen Agarose-Antiserum-Mischung werden mit einer vorgewärmten Meßpipette auf eine völlig waagerecht (Nivelliertisch) liegende Glasplatte aus Fensterglas der Größe lo x lo cm pipettiert, die vorher durch Abflämmen mit Alkohol fettfrei gemacht wurde. Man läßt die Lösung bei Zimmertemperatur erstarren und erhält eine gleichmäßige Gelschicht von 1,5 - 1,8 mm Dicke. Mit einer abgeschliffenen Injektionsnadel werden Löcher von 2,5 mm Durchmesser in die Gelschicht gestanzt. Die Gelpfropfen werden mit einer kleineren Nadel unter leichtem Sog einer Wasserstrahlpumpe abgesaugt. Auf einer Platte werden in einer Reihe 1 cm vom Rand entfernt 16 Löcher im Abstand von 5-6 mm (gemessen von Mittelpunkt zu Mittelpunkt) gestanzt.

Elektrophorese: Die Gelplatten werden direkt auf die durch Kunststoffolie isolierte Brücke der Trennkammer gelegt. Der Kontakt zur Pufferlösung wird durch Filterpapier hergestellt. Ein Standardserum (es wurde dasselbe wie unter b verwendet) dient zum Aufstellen von Bezugskurven. Davon werden 5 Verdünnungen (1:3, 1:4, 1:5, 1:6 und 1:8) mit o,9proz. NaCl-Lösung hergestellt. Die Patientenseren werden 1:4 mit o,9proz. NaCl-Lösung verdünnt. Von jeder dieser Verdünnungen werden 5 µl in jeweils ein Startloch mit der Mikroliterspritze eingefüllt. Um eine Vordiffusion der Antigene zu vermeiden, werden die Proben erst nach dem Einschalten des Netzgerätes in die Stanzlöcher eingefüllt. Laufzeit: 3 Std. bei einer Spannung von 8o - loo V zwischen den Plattenenden (8-lo V/cm). Während der Elektrophorese wird die Brücke durch Leitungswasser gekühlt.

Trocknen und Färben: Nach Abschluß der Elektrophorese wird die Gelplatte mit einer Filterpapierschicht und Zellstoff abgedeckt. Durch Auflegen einer Glasplatte (ca. lcm dick) für 15 Min. wird durch leichten Druck der größte Teil der Gelflüssigkeit aus-

gepreßt. Nach dem Abnehmen des Filterpapieres werden 3 Waschgänge durchgeführt, um nicht präzipitiertes Protein aus dem Gel zu entfernen (48): 2 x 15 Min. in o,9proz. NaCl-Lösung, 1 x 15 Min. in demin. Wasser. Anschließend wird die Platte mit Filterpapier bedeckt und 6o Min. mit Warmluft (Föhn) getrocknet.
Die trockenen Platten werden 6o Min. in die Färbelösung gelegt und anschließend in der Entfärbelösung so lange entfärbt, bis die Gelschicht fast transparent erscheint. Nach der Entfärbung werden die Platten zwischen Filterpapier kurz vorgetrocknet und dann zum endgültigen Trocknen 6o Min. bei Zimmertemperatur offen liegen gelassen. Unmittelbar anschließend können die Präzipitatzacken ausgemessen werden. Die Länge der Präzipitate der Standardverdünnungen werden als Funktion der Antigen-Konzentration auf Millimeterpapier aufgetragen. An der so entstandenen Bezugskurve kann die Konzentration der einzelnen Patientenseren abgelesen werden, wobei das unverdünnte Standardserum gleich loo% gesetzt wird.

d) Immunologischer Nachweis der α- und β-Lipoproteine und Bestimmung des Triglycerid-Cholesterin-Quotienten in den Fraktionen nach präparativer Ultrazentrifugation

Die präparative Ultrazentrifugation wurde in einer Zentrifuge Spinco Modell L2-5oB, Rotor 4o,2 bei 5°C durchgeführt. Die Einstellung der Serumdichten erfolgte nach der Methode von Havel und Mitarbeitern (21) mit einigen Modifikationen (8,2o). Zur Einstellung der Dichten und als Trennmedium wurden o,9proz. NaCl-Lösung und NaCl/KBr-Lösungen verschiedener Dichten verwendet. Durch 3 hintereinander folgende Präparationen bei den Dichten d=1,oo6; 1,o63 und 1,21 wurden aus demselben Serum 4 Fraktionen erhalten.

Arbeitsgang

3 ml Serum mit der Dichte d=1,oo6 (29,56) werden mit o,9proz. NaCl-Lösung der Dichte d=1,oo6 (27) überschichtet und 24 Stdn. bei 1o5.ooo g (38.ooo U/Min.) zentrifugiert. Der Überstand, der die Lipoproteine der Dichte d<1,oo6 (VLDL) enthält, wird mit einer Spritze abgezogen. Etwa 1 ml der Zwischenzone wird verworfen, der Unterstand mit NaCl/KBr-Lösung der Dichte d=1,34o

auf die Dichte d=1,o63 eingestellt, mit NaCl/KBr-Lösung der Dichte d=1,o63 als Trennmedium vorsichtig überschichtet und erneut 24 Stdn. bei 1o5.ooo g zentrifugiert. Das gelbe Flotat, das die Lipoproteine der Dichte d=1,oo6-1,o63 (LDL) enthält, wird entfernt und wiederum 1 ml der Zwischenzone verworfen. Durch eine weitere Präparation des Unterstandes bei der Dichte des Trennmediums von d=1,21 werden als Überstand Lipoproteine der Dichte d=1,o63-1,21 (HDL) und als Unterstand Albumin und restliche Serumproteine Dichte d>1,21 gewonnen. Darstellung des gesamten Präparationsvorganges in Abb. 1.

Aus den einzelnen Fraktionen wurden elektrophoretische und immunologische Untersuchungen der Lipoproteine wie oben beschrieben durchgeführt. Außerdem wurde der Gehalt von Cholesterin und Triglyceriden der Fraktionen gemessen.Cholesterin wurde als Gesamtcholesterin ohne Extraktion nach Liebermann und Burchard (5,38) bestimmt, Triglyceride enzymatisch nach Eggstein und Kreutz (12,13).

e) Bestimmung der HDL-Fraktionen durch Disc-Elektrophorese

Die Auftrennung der Serum-α-Lipoproteine in die drei HDL-Typen nach Utermann (58) erfolgte mit der disc-elektrophoretischen Methode nach Maurer (39) mit Modifikationen von Utermann (58).

Die Disc-Elektrophorese wird in einem Shandon-Elektrophorese-Apparat mit Glycin-Tris-Puffer pH 8,3 als Elektrodenpuffer durchgeführt. Als Trennmedium dient ein 7,5proz. Riboflavin-katalysiertes Polyacrylamidgel pH 8,9 (Riboflavin-Endkonzentration im Gel o,5 mg%). Seine Herstellung (39) wird wie folgt modifiziert (58): Lösung 1 enthält 66 mg Laurinsäure/loo ml, so daß eine Endkonzentration von $4{,}1 \times 10^{-3}$ M im Gel entsteht. Zur Elektrophorese werden Glasröhrchen von 5mm Innendurchmesser und 65 - 7o mm Länge verwendet. Die Seren werden mit Sudan-Schwarz B (1 g Sudan-Schwarz B wird in loo ml Äthylenglycoll bei loo-11o°C gelöst und nach 5 Min. abfiltriert) im Verhältnis 3:1 nach der Methode von Mc Donald und Ribeiro (1o) vorgefärbt. 3o µl des vorgefärbten Serums werden auf das Gel aufgetragen. Trennzeit: 6o Min. bei 1,5 mA. Die einzelnen Banden können sofort danach optisch im Vergleich zu bekannten HDL-Typen bewertet werden.

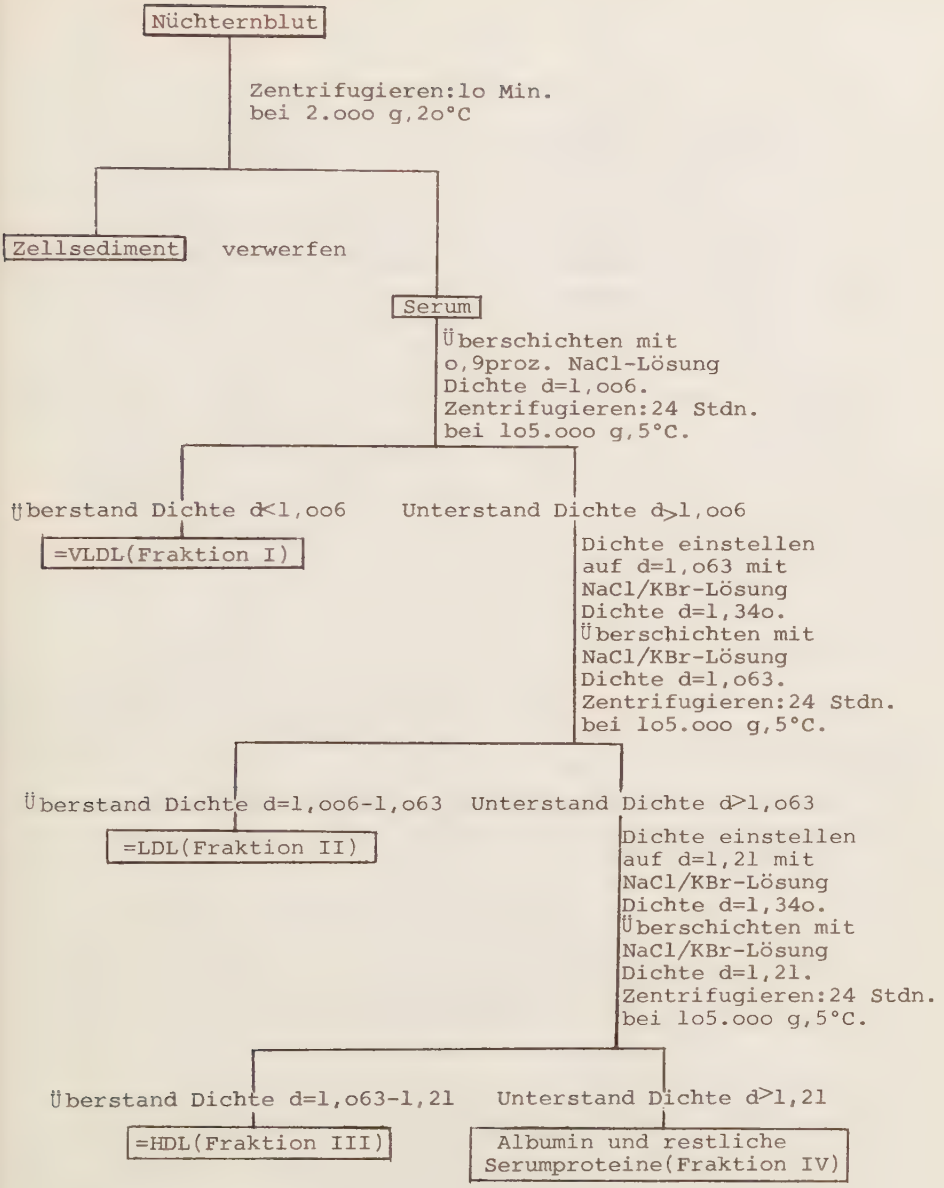


Abb.1

Verfahren zur Trennung von Serum-Lipoproteinen mit der Ultrazentrifuge

III. Ergebnisse

1. Auftrennung der Lipoproteine auf Acetatfolien bei akuter Virushepatitis

a) Quantitative Veränderungen: Die Ergebnisse der Serumlipoproteinanalysen mit Acetatfolienelektrophorese bei Hepatitiskranken bei der Aufnahmeuntersuchung und in der 3.Woche nach Krankheitsbeginn sind in Tab.1 zusammengestellt. Vergleichswerte gesunder Personen sind ebenfalls angegeben. Die ausgeprägtesten Veränderungen fanden sich im Bereich der α-Lipoproteine. Diese waren bereits bei der Aufnahmeuntersuchung signifikant gegenüber Gesunden herabgesetzt und fielen bis zur 3.Woche weiter ab. Die praeβ-Lipoproteine waren mässig herabgesetzt,blieben aber von der 1.-3.Woche konstant. Die β-Lipoproteine waren bei der Aufnahmeuntersuchung signifikant erhöht und stiegen noch bis zur 3.Woche an.

Tabelle 1		Gesunde n=24	Virushepatitis bei der Aufnahmeuntersuchung		Virushepatitis in der 3.Woche nach Krankheitsbeginn+	
Lipidfraktion	Methode	$\bar{x}\pm s$	n	$\bar{x}\pm s$	n	$\bar{x}\pm s$
α-LP	A	19,1± 4,5	16	1o,5± 4,6	7	6,2± 2,9
praeβ-LP	A	26,5± 5,2	16	21,1± 3,5	7	21,7± 5,3
β-LP	A	54,3± 5,8	16	68,5± 5,7	7	72,1± 6,6
α-LP	B	12o,4±15,7	12	45,5± 2o,3	6	4,5± 3,o
β-LP	C	358,1±92,7	16	527,7±125,1	7	546,1±83,o

Lipoproteine bei Patienten mit akuter Virushepatitis und gesunden Vergleichspersonen

Methoden: A - Lipidelektrophorese auf Acetatfolien
B - Quantitative Immunelektrophorese nach Laurell
C - Radiale Immundiffusion
Werte für A in % der Gesamtlipoproteine
B in % der Standardkonzentration
C in mg/loo ml

Die Berechnung der Signifikanz p im t-Test von Student mit ungepaarten Werten zwischen Gesunden einerseits und Patienten mit akuter Virushepatitis andererseits ergab eine hohe signifikante Differenz für alle Vergleiche von $p<o,ooo5$, bis auf den Wert für praeβ-LP Gesunde gegen Virushepatitis in der 3. Woche $p<o,o25$.

+s. auch andere Autoren (43,46)

++Krankheitsbeginn=Auftreten des Ikterus

Das Verhalten der Werte während des Krankheitsverlaufes von der 1. bis 8. Woche ist in Abb. 2 dargestellt. Es zeigt sich, daß die α-Lipoproteine sich bis zum Abklingen der Hepatitis normalisieren, die herabgesetzten praeβ-Lipoproteine erreichen gegen Ende der Erkrankung ebenfalls wieder den Normwert. Die anfangs erhöhten β-Lipoproteine sinken während der Behandlungsdauer wieder ab.

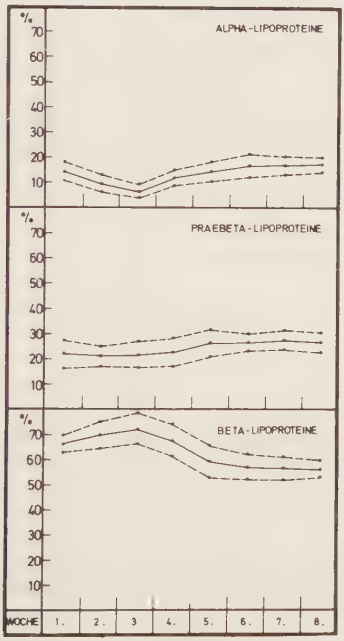


Abb. 2

Lipidelektrophorese bei akuter Virushepatitis im Verlauf der 1.-8.Woche nach Auftreten des Ikterus
Lipoproteine in % der Gesamtlipoproteine
———=$\bar{x}$ -----=s

b) Qualitative Veränderungen: Bei einem Teil der Patienten fanden sich außer den quantitativen auch qualitative Abweichungen, die bei Gesunden nicht vorkamen: 1. eine ungenügende Auftrennung der β- und praeβ-Bande, bei der letztere

an einer mehr oder weniger deutlichen Abstufung im abfallenden Schenkel der β-Bande zu erkennen ist, 2. eine ungenügende Auftrennung der α- und Albumin-Bande;in diesen Fällen läßt sich die α-Bande nur durch eine kleine Abstufung im aufsteigenden Schenkel der Albuminbande unterscheiden (Abb.3).

Abb.3

Unvollständige Trennung von Seren (akute Virushepatitis)

A: Pat. W. V., 17 J., 3.Woche mit unvollständiger Trennung der β- und praeβ-Bande.
B: Pat. W. B., 57 J., 4.Woche mit unvollständiger Trennung der α-Bande und der unbekannten Bande im Albuminbereich.

Durch gleichzeitige Lipid- und Proteinfärbung nach Auftrennung der Fraktionen wurde versucht, die atypisch lokalisierten Banden den allgemein bekannten Proteinfraktionen zuzuordnen. Zum Vergleich wurde die Auftrennung eines Normalserums mit derselben doppelten Färbung behandelt (Abb.4). Die Abb.4 zeigt, daß sich in der Lipidelektrophorese eine Fraktion unbekannter Natur im Bereich der γ-Globuline, eine weitere im Bereich des Albumins findet. Entsprechende Befunde wurden bereits beschrieben (4,15,29,47,52). Die bekannten Lipoproteinfraktionen der β-, praeβ- und α-Lipoproteine sind übereinstimmend mit Angaben der Literatur (25,26,47) der β-, α_2- und α_1-Fraktionen der Proteinelektrophorese zugeordnet. Die ungenügende Trennung von β- und praeβ-Banden einerseits und von α- und Albumin-Banden andererseits ist nach diesen Befunden

vermutlich nicht durch eine geänderte Wanderungsgeschwindigkeit einer Lipidbande bedingt. Die zur Darstellung gelangte β/praeβ- bzw. α/Albumin-Bande ist verbreitert, die Zuordnung der praeβ- bzw. α-Lipoproteinbande zu den Proteinfraktionen ist dieselbe wie bei normalen Vergleichsseren.

Abb.4

Elektrophoretische Trennung eines Serums

Nach der Elektrophorese Längsteilung des Streifens. Anfärbung der einen Hälfte (A) mit Ölrot O, der anderen Hälfte (B) mit Ponceau S.

c) Identifizierung der Lipidelektrophoresebanden bei Gesunden und Hepatitikern in der Ultrazentrifuge: Die Charakterisierung der elektrophoretisch trennbaren Lipidfraktionen in Hepatitisseren und Seren von Gesunden konnte durch ein Fraktionierungsverfahren mit der praeparativen Ultrazentrifuge durchgeführt werden. Serum Gesunder und verschiedener Patienten mit akuter Virushepatitis wurden mit der praeparativen Ultrazentrifuge aufgetrennt. Die Untersuchung der Fraktionen durch Lipidelektrophorese ergab (Tab. 2), daß die Lipoproteine der Fraktion I($d<1{,}006$) identisch sind mit denen, die elektrophoretisch als praeβ-Bande und Chylomikronen erscheinen, die Lipoproteine der Fraktion II ($d=1{,}006$ - $1{,}063$) als β-Bande, die der Fraktion III ($d=1{,}063$ - $1{,}21$) als α-Bande. Aus der

Fraktion IV (d>1,21) konnte eine inhomogene Bande nachgewiesen werden, die der des Albumins und restlichen Serumproteinen sowie in einigen Fällen den α-Lipoproteinen entsprach.

Fraktion	A				B		C	
	n							
	Chylom.	β-	praeβ-	α-LP	n	α-LP	n	β-LP
I VLDL (d<1,006)	11	Ø	14	Ø	14	Ø	11 1 2	++ +++ ++++
II LDL (d=1,006-1,063)	2	14	Ø	Ø	14	Ø	2 3 9	++ +++ ++++
III HDL (d=1,063-1,21)	Ø	Ø	Ø	14	2 6 4 2	+ ++ +++ ++++	11 3	Ø +
IV Albumin u.restl. Serumproteine (d>1,21)	Ø	Ø	Ø	4	12 2	Ø +	14	Ø

Tab.2

Untersuchung der durch praeparative Ultrazentrifugation gewonnenen Fraktionen I-IV mit 3 Methoden (n=14):

A: Lipidelektrophorese auf Acetatfolien
B: Quantitative Immunelektrophorese der α-Lipoproteine nach Laurell
C: Quantitative Bestimmung der β-Lipoproteine durch radiale Immundiffusion

Zu A: n=Anzahl der untersuchten Seren, bei denen die jeweilige Bande (Chylomikronen, β-, praeβ- und α- Lipoproteine) nachweisbar war.
Zu B: n=Anzahl der untersuchten Seren, bei den α-Lipoproteine nachzuweisen waren.
Zeichenerklärung: Ø=keine α-LP, +=1-10% (Spur), ++=11-50%, +++=51-100%, ++++=101-150% α-LP der Standardkonzentration.
Zu C: n=Anzahl der untersuchten Seren, bei denen β-Lipoproteine nachzuweisen waren.
Zeichenerklärung: Ø=keine β-LP, +=1-10 (Spur), ++=11-100, +++=101-200, ++++=mehr als 200mg β-LP/100ml.

Bei Hepatitispatienten mit sehr niedriger α-Bande (3. Krankheitswoche) ließ sich nach Auftrennung mit der Ultrazentrifuge an üblicher Stelle in der Fraktion III, weniger in Fraktion IV,

eine deutliche α-Bande nachweisen. Es fand sich kein Anhalt für das Vorkommen von α-Lipoproteinen in Fraktion I oder II. Seren von Patienten, bei denen in der Lipidelektrophorese β- und praeβ-Banden nicht genügend getrennt waren, wurden ebenfalls in der Ultrazentrifuge fraktioniert. Es sollte geprüft werden, ob diese Lipoproteine in der Ultrazentrifuge in den richtigen Fraktionen nachweisbar waren. Von anderen Autoren wurden physikalische Änderungen von Lipoproteinmolekülen, die mit einer veränderten Mobilität und Dichte verbunden sind, bereits beschrieben (15, 29, 49, 5o, 53, 57). Von jeder der in der Ultrazentrifuge getrennten Fraktionen wurden Lipidelektrophoresen auf Acetatfolien durchgeführt (Tab. 2). Bis auf wenige Ausnahmen, die auf eine unsaubere Trennung zurückzuführen sind, war auf diesen jeweils nur eine Fraktion nachweisbar. Deren Lokalisation gelang durch Vergleich mit der Lipidelektrophorese des nicht in der Ultrazentrifuge aufgetrennten Nativserums. Es zeigte sich, daß alle Lipoproteinbanden in den bereits beschriebenen Fraktionen nachgewiesen werden konnten (Abb. 5). Abweichungen von den an Normalseren gefundenen Verhältnissen waren nicht erkennbar.

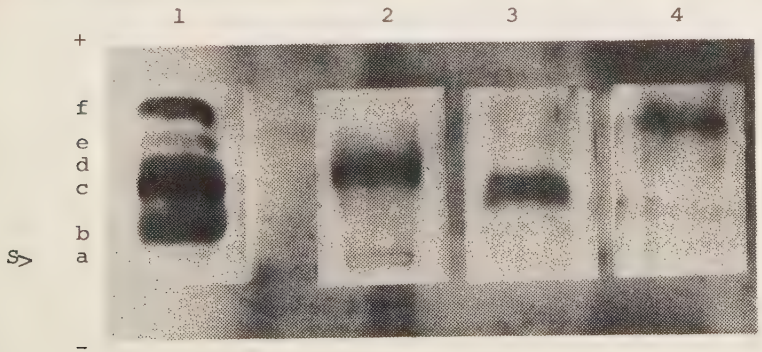


Abb. 5

Lipidelektrophorese auf Acetatfolien aus einem Nativserum sowie aus 3 in der praeparativen Ultrazentrifuge gewonnenen Fraktionen des selben Serums (Pat.:I.H.,5o J., ak. Virushep. in der 5.Woche)
Acetatfolien: 1=Nativserum, 2=Fraktion I, 3=Fraktion II, 4=Fraktion III.
Banden: a=Chylomikronen, b=unbekannte Bande im Bereich der γ-Globuline, c=β-LP, d=praeβ-LP, e=α-LP, f=unbekannte Bande im Bereich des Albumins.
S=Start

2. Immunologische Bestimmung der α- und β-Lipoproteine

a) Bestimmung der α-Lipoproteine mit der Technik der quantitativen Immunelektrophorese nach Laurell: Quantitative immunologische Bestimmungen der α-Lipoproteine bei Patienten mit akuter Virushepatitis wurden während des gesamten Krankheitsverlaufes durchgeführt. Entsprechend den mit der Lipidelektrophorese gewonnenen Ergebnissen fanden sich sehr niedrige Werte bei Krankheitsbeginn, die während der ersten drei Wochen noch weiter abfielen und bis zur 6. Woche wieder anstiegen (Abb. 6). Damit konnte bewiesen werden, daß eine echte Verminderung der α-Lipoproteine im Anfangsstadium der akuten Virushepatitis vorlag. Ähnliche Befunde wurden auch bei 2 Patienten mit Lebercirrhose (Abb. 7) erhoben, wie schon von Stephan und Frahm beschrieben wurde (56).

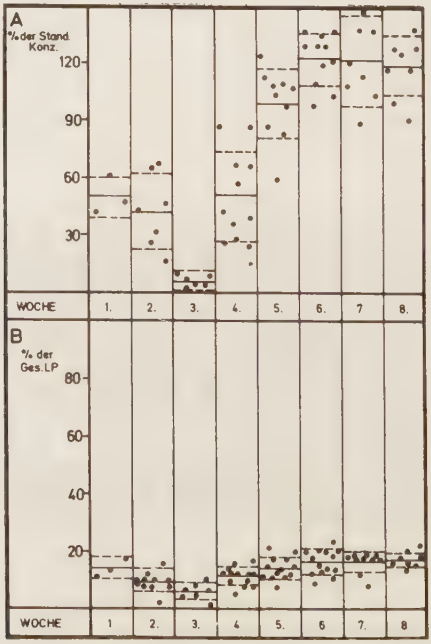
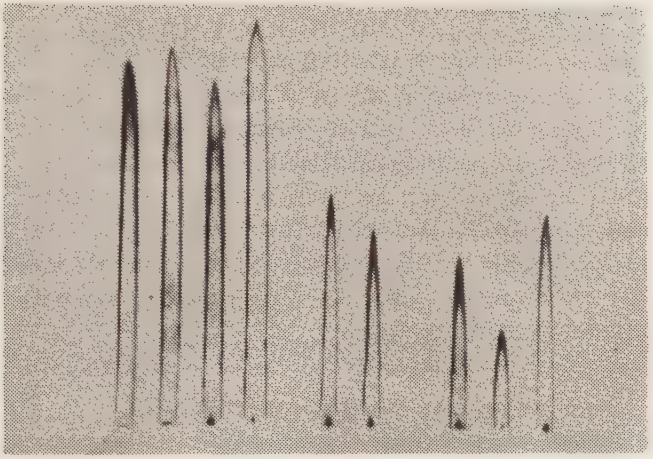


Abb. 6

α-Lipoproteine bei akuter Virushepatitis

A: Quantitative immunelektrophoretische Bestimmung nach Laurell
B: Lipidelektrophorese auf Acetatfolien
Krankheitsbeginn=Auftreten des Ikterus
———=$\bar{x}$ -----=s



1 2 3 4 5 6 7 8 9

Abb. 7

Nachweis der erniedrigten α-Lipoproteine bei Leberkrankheiten durch quantitative Immunelektrophorese nach Laurell

1-4= gesunde Normalperson
5= Pat. T.J., 45 J., Lebercirrhose, 6. Woche
6= Pat. A.T., 58 J., Lebercirrhose, 4. Woche
7= Pat. E.H., 59 J., akute Virushepatitis, 2. Woche
8= Pat. A.K., 84 J., akute Virushepatitis, 3. Woche
9= Pat. I.G., 33 J., akute Virushepatitis, 2. Woche

Die immunochemische Charakterisierung der Lipoproteinfraktionen aus Seren von Patienten mit akuter Virushepatitis durch praeparative Ultrazentrifugation zeigte (Tab. 2), daß sich auch im akuten Anfangsstadium in Fraktion I ($d<1{,}006$) und Fraktion II ($d=1{,}006 - 1{,}063$) immunologisch keine α-Lipoproteine nachweisen ließen. Diese fanden sich hier lediglich in Fraktion III ($d=1{,}063 - 1{,}21$), weniger noch in Fraktion IV ($d>1{,}21$). Eine Veränderung der Mobilität als Ursache der verminderten α-Lipoproteinfraktion ist somit unwahrscheinlich.

b) Bestimmung der β-Lipoproteine durch radiale Immundiffusion:
Die immunologische Bestimmung der β-Lipoproteine ergab im Verlauf der Virushepatitis ähnliche Mittelwertskurven wie die

Bestimmung auf Acetatfolien (Abb. 8). Die Streuung der Einzelwerte war aber mit der immunologischen Methode größer. Es ist aber zu berücksichtigen, daß die Ergebnisse nicht absolut vergleichbar sind, da mit der immunologischen Methode eine Trennung in β- und praeβ-Lipoproteine nicht möglich ist. Das anfangs entgegengesetzte Verhalten der praeβ-Lipoproteine kann nur mit Hilfe der Acetatfolien-Elektrophorese nachgewiesen werden. Nach Auftrennung in der Ultrazentrifuge konnten β-Lipoproteine durch radiale Immundiffusion nur in Fraktion I und II und in Spuren in Fraktion III nachgewiesen werden (Tab. 2).

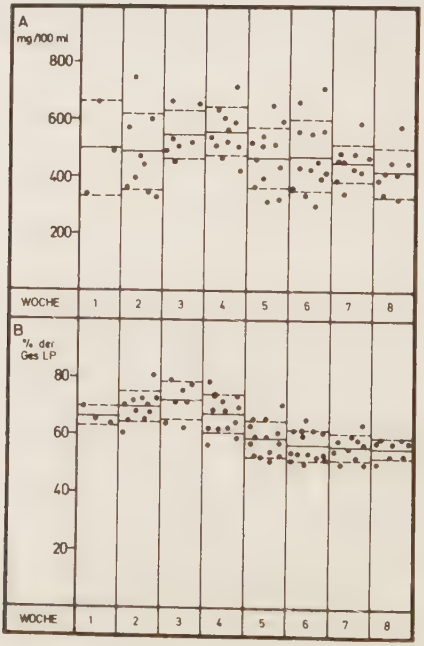


Abb. 8

β-Lipoproteine bei akuter Virushepatitis

A: Quantitative Bestimmung durch radiale Immundiffusion
B: Lipidelektrophorese auf Acetatfolien
Krankheitsbeginn=Auftreten des Ikterus
———=$\bar{x}$ -----=s

3. Bestimmung des Triglycerid-Cholesterin-Quotienten in den Lipidfraktionen

Aus den in der Ultrazentrifuge gewonnenen Fraktionen I-III wurde der Triglycerid-Cholesterin-Quotient bestimmt (Tab.3). Vergleichswerte aus der Literatur (27,47) ergaben Übereinstimmung jeweils nur für einzelne Fraktionen. Es ist wahrscheinlich, daß Differenzen in einzelnen Fraktionen durch unterschiedliche Versuchsbedingungen mit Dissoziation der Protein-Lipidbindung während des Zentrifugierens hervorgerufen sind.

Dichteklassen	Triglyceride		Cholesterin		Trigl./Chol. Quotient
	mg/1oo ml	%	mg/1oo ml	%	
VLDL (d<1,oo6)	2o9,o ± 112,7	5o	47,1 ± 25,o	16	4,43 (A:3,37, B:2,63)
LDL (d=1,oo6-1,o63)	177,9 ± 98,1	42	227,6 ± 125,o	8o	o,78 (A:o,2o, B:o,45)
HDL (d=1,o63-1,21)	34,9 ± 11,o	8	13,o ± 8,3	4	2,68 (A:o,36, B:1,94)

Tab.3

Prozentuale Verteilung von Triglyceriden und Cholesterin und die Triglycerid/Cholesterin-Quotienten in den durch präparative Ultrazentrifugation gewonnenen Fraktionen I-III von 8 Patienten mit akuter Virushepatitis und Vergleichswerte von Klemens (27=A) und Schettler (47=B)

4. Bestimmung der einzelnen HDL-Fraktionen in der Disc-Elektrophorese

Utermann (58) konnte mit der Disc-Elektrophorese in den HDL_2-(Dichte d=1,o63 -1,125) und HDL_3-(Dichte d=1,125-1,21) Fraktionen von gesunden Versuchspersonen 8 verschiedene Komponente nachweisen. Diese waren auch im Nativserum, allerdings nicht so scharf getrennt, nachweisbar. Von den 8 Komponenten werden 4 als Hauptkomponente bezeichnet: A,B,C und D. Bei längerer Dauer der Elektrophorese teilt sich D in 3 und B in 2 Komponente auf. Bei A konnte manchmal zusätzlich ein A_1 beobachtet werden. Von den Hauptkomponenten fanden sich A und B in der HDL_3-Region, C und D in der HDL_2-

Region. Zusätzlich zu diesen qualitativen Differenzen wurden auch quantitative Differenzen beobachtet, mit denen die Seren in 3 Typen klassifiziert werden konnten:

1. Seren mit überwiegend HDL_3-Lipoproteinen (Typ I),
2. Seren, bei denen sowohl die HDL_2- als auch HDL_3-Komponente in gleicher Intensität vorhanden waren (Typ II) und
3. Seren mit vorwiegend HDL_2-Banden (Typ III).

In Seren von 8 Hepatitiskranken in verschiedenen Stadien der Erkrankung wurden in eigenen Untersuchungen alle 3 von Utermann klassifizierte Typen nachgewiesen. Bei Männern überwog Typ I, bei Frauen Typ II und besonders Typ III. Damit stimmen unsere Ergebnisse mit denen von Utermann überein. Pathologische Befunde im Bereich der α-Lipoprotein-Unterfraktionen wurden nicht gefunden.

5. Bestimmungen weiterer Laborwerte

Im Verlauf der Erkrankung wurden von den Patienten mit akuter Virushepatitis Routineuntersuchungen für alkalische Phosphatase, GOT, GPT, Bilirubin, Cholesterin und Triglyceride im Nativserum durchgeführt. Die anfangs zum großen Teil sehr erhöhten Werte sanken bei Besserung des Krankheitsbildes und normalisierten sich gegen Ende der Erkrankung. Auffallend war ein Anstieg der Transaminasen und Bilirubinwerte bis etwa zur 2. Woche nach Krankheitsbeginn mit anschließendem Sinken bis zum Normalwert. Damit liegt die größte Veränderung 1 Woche vor der der Lipoproteine. In Abb. 9 sind die Werte der 1. bis 8. Woche von Serum-Bilirubin und GPT einerseits und immunologisch bestimmten α- und β-Lipoproteinen andererseits gegenübergestellt.

Bei verzögertem Heilungsverlauf, kenntlich an einem protrahierten Abfall von Bilirubin und GPT, waren auch die Veränderungen der Serumlipoproteine verschoben. Die tiefsten Werte für α- und praeβ-Lipoproteine, bzw. die höchsten für β-Lipoproteine lagen in der 7. bzw. 1o. Woche nach Krankheitsbeginn. Der Wiederanstieg bzw. -abfall erfolgte ebenfalls langsam. Werte von 2 Patienten mit verzögertem Verlauf einer Virushepatitis sind in Abb. 1o und 11. dargestellt.

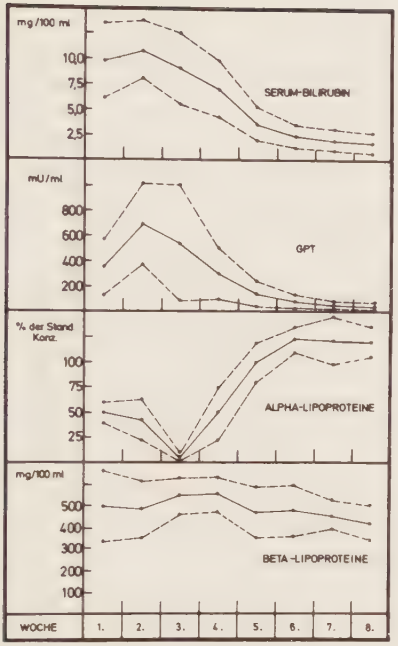


Abb. 9

Bilirubin, GPT, α- und β-Lipoproteine bei Patienten mit akuter Virushepatitis

Bestimmung der α-Lipoproteine durch quantitative Immun-Elektrophorese nach Laurell.
Bestimmung der β-Lipoproteine durch radiale Immundiffusion.
Krankheitsbeginn = Auftreten des Ikterus
———=$\bar{x}$ -----=s

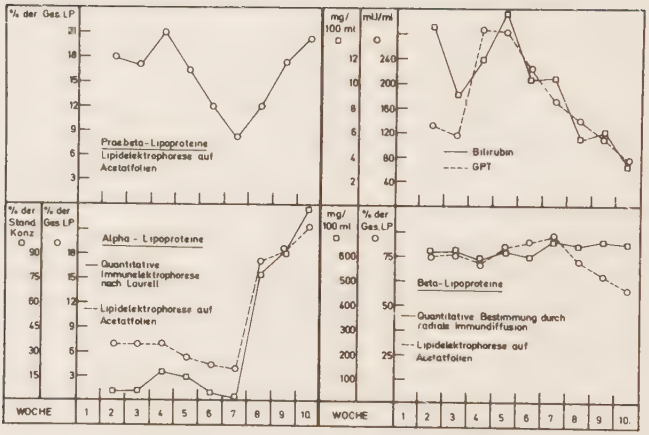


Abb. 1o

Pat. R.K., 76 J., verzögert abheilende Virushepatitis
Die Patientin verließ gegen ärztlichen Rat vorzeitig die Klinik.

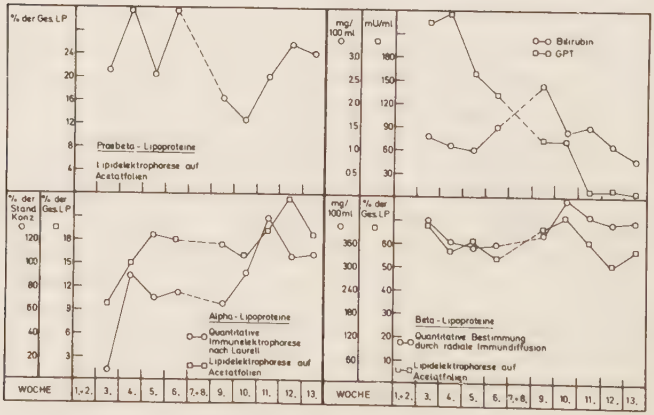


Abb. 11

Pat. K.Z., 57 J., eine rezidivierende Hepatitis mit akutem Schub und Übergang in chronisch aggressive Hepatitis
Die Patientin wurde in der 6. Woche entlassen, in der 9. Woche erfolgte Wiederaufnahme.

IV. Diskussion

Abnormalitäten der Zusammensetzung der Serumlipoproteine bei Leberkrankheiten wurden schon vielfach beschrieben (11,15,24,31,57). Diese liegen besonders im Bereich der Lipidbeladungen (1,2,9,14,17,37,42, 55) und im Bereich der HDL - und LDL-Fraktionen (4,29,32,43,54) und sind gekennzeichnet durch einen Anstieg der LDL-und Abfall der HDL-Fraktion. Diese unspezifischen Veränderungen wurden zunächst durch Ultrazentrifugation festgestellt (16,42,45). Erst durch Einführung einfacher zu handhabender quantitativer Methoden zur Trennung der Lipoproteine ist es möglich geworden, solche Veränderungen näher zu charakterisieren. Mit der Methode der Agarose-Gel-Elektrophorese fand Seidel (49,53) bei schweren Leberschäden gleich welcher Genese eine veränderte Mobilität der VLDL aus der α_2- zur β-Position. Immunologische Methoden ermöglichten es, atypische Lipoproteine zu charakterisieren (28, 45,49,57). Es ließ sich ein bisher unbekanntes Lipoprotein im Serum von Patienten mit Verschlußikterus nachweisen (41,49,5o). Getrennte Bestimmungen der Apoproteine und des Lipidanteiles ließen annehmen, daß ein Verlust der Bindungsfähigkeit für Cholesterin bei Apoprotein A vorliegt.

In Untersuchungen aus unserem Arbeitskreis (18,59) wurde die Technik der Lipidelektrophorese auf Acetatfolien (3o) zur weiteren Beobachtung der Lipidveränderungen bei Leberkrankheiten angewendet. Die Methode ermöglicht die Gewinnung semiquantitativer Daten mit ausreichender Reproduzierbarkeit. Beim Vergleich Lipidelektrophorese auf Acetatfolien zur Ultrazentrifuge fand Klemens (26,27), daß die VLDL bei Normalpersonen den praeβ-Lipoproteinen, die LDL den β- und die HDL den α-Lipoproteinen entsprechen. Eine Nachprüfung in eigenen Untersuchungen ergab übereinstimmende Ergebnisse.

Bei Patienten mit akuter Virushepatitis konnte mit der Methode der Acetatfolien-Elektrophorese der Befund einer Verschiebung der α-/β-Lipoprotein-Relation zugunsten der β-Lipoproteine mit Absinken der α-Lipoproteine ebenfalls

bestätigt werden. Da die Methode semiquantitative Werte ergibt, konnten Ausmaß und zeitlicher Verlauf der Veränderungen näher charakterisiert werden. Hierbei fanden sich einige Auffälligkeiten. Das Maximum des Abfalls der α-Lipoproteine und Anstiegs der β-Lipoproteine lag in der 3. Woche nach Krankheitsbeginn, der mit dem Einsetzen des Ikterus definiert wurde, wie auch andere Autoren vorschlagen (11,29). Damit waren die ausgeprägtesten Veränderungen etwa 1 Woche später nachzuweisen als für Bilirubin und Transaminasen. Es konnte durch immunologische Untersuchungen bestätigt werden, daß die beobachteten Veränderungen den Lipoproteinen und zwar dem Proteinanteil zuzuschreiben sind. Die Bestimmung der α-Lipoproteine mit Hilfe quantitativer Immunelektrophorese nach Laurell ergab entsprechende Kurvenverläufe, die sogar noch ausgeprägter waren als die durch Acetatfolien-Elektrophorese gewonnenen. Ähnliche Feststellungen wurden für die β-Lipoproteine mit Hilfe der radialen Immundiffusion gewonnen.

Ein Befund bedürfte der weiteren Nachprüfung: Im Frühstadium der Hepatitis fand sich eine unvollständige Trennung der α-Lipoproteinbande von der im Albuminbereich befindlichen Fraktion einerseits und eine unvollständige Trennung von β- und praeβ-Lipoproteinen andererseits. Da diese Erscheinungen bei Kontrolluntersuchungen wiedergefunden wurden, wird ein Kunstprodukt ausgeschlossen. Ressler (44) fand bei seinen Elektrophoresen auf Agar ebenfalls eine ungenügende Trennung von α_2- und β-Banden bei infektiöser Virushepatitis. Knorr (29) konnte diesen Befund bei Hepatitis epidemica bei Kindern bestätigen. Diese Veränderungen könnten auf verschiedene Ursachen zurückzuführen sein, z.B. durch eine veränderte Laufstrecke einzelner Lipoproteinmoleküle durch Änderung des Proteinmoleküls selbst oder seiner Lipidbeladung. Auch könnte eine Erhöhung der Proteinkonzentration zur Erhöhung der Dichte führen. Andererseits könnte eine unspezifische Zunahme bestimmter Lipoproteine zu einer ungenügenden Trennung der Fraktionen führen.

Die Lipoproteinfraktionen der Acetatfolien-Elektrophorese von Hepatitiskranken wurden auch nochmals durch Trennung in der Ultrazentrifuge näher charakterisiert. Auch in Hepatitis-

seren war die Zuordnung der Fraktionen dieselbe wie bereits beschrieben. Es fand sich lediglich eine Verbreiterung der α-Fraktion, so daß diese nicht nur in der HDL-Fraktion, sondern auch in Spuren in der Fraktion im Bereich des Albumins nachweisbar war.

Anmerkung

Herrn Chem. J. Menzel vom Institut für Humangenetik der Philipps-Universität Marburg/Lahn, Direktor : Prof. Dr. G. G. Wendt, danke ich für die wertvolle Unterstützung bei der Versuchsplanung und Durchführung der Untersuchungen in der Ultrazentrifuge. Die Auftrennung der α-Lipoproteine mit der Disc-Elektrophorese wurde von Herrn Menzel ausgeführt.

V. Zusammenfassung

Bei 2o Patienten mit akuter Virushepatitis wurden Untersuchungen der Serumlipoproteine durchgeführt.
Hierzu wurden folgende Methoden angewandt:
Auftrennung der Lipoproteine auf Acetatfolien und semiquantitative Auswertung
Quantitative Bestimmung der β-Lipoproteine durch radiale Immundiffusion
Quantitative immunelektrophoretische Bestimmung der α-Lipoproteine nach Laurell
Bestimmung der Lipoproteine mit denselben Methoden in den Fraktionen nach präparativer Ultrazentrifugation
Bestimmung der HDL-Fraktionen durch Disc-Elektrophorese
Bei akuter Virushepatitis finden sich ausgeprägte quantitative Veränderungen der Lipoproteinfraktionen:
Die α-Lipoproteine sind stark herabgesetzt und fallen bis zur 3. Woche weiter ab. Die β-Lipoproteine sind dagegen signifikant erhöht und steigen bis zur 3. Woche weiter an. Eine mäßige konstante Verminderung der praeß-Lipoproteine findet sich während des gesamten Krankheitsverlaufes. Ab der 6. Woche nach Krankheitsbeginn normalisieren sich die Werte.
Zusätzlich werden bei einem Teil der Patienten mit Virushepatitis folgende qualitative Veränderungen beobachtet:
Es findet sich auf Acetatfolien eine ungenügende Auftrennung der β- und praeß-Lipoproteinbande und der α-Lipoproteinbande und der im Albuminbereich befindlichen Bande.
Durch Auftrennung der Seren in der Ultrazentrifuge zeigt sich, daß die Lipoproteinbanden auch bei ungenügender Trennung in den von anderen Autoren beschriebenen Fraktionen nachgewiesen werden können. Abweichungen der Hepatitisseren von Normalseren sind nicht erkennbar.
Der Abfall der α- und der Anstieg der β-Lipoproteine und die Zugehörigkeit dieser Lipoproteine zu den Fraktionen der Ultrazentrifuge lassen sich auch mit immunologischen Methoden

nachweisen.
Messungen von GOT, GPT, Bilirubin und alkalischer Phosphatase zeigen, daß diese Parameter in der 2. Woche nach Krankheitsbeginn die stärksten Veränderungen haben.
Dagegen ist für Lipoproteine der Gipfel bzw. Tiefpunkt der Werte im Ablauf der 3. Woche erkennbar.
Die Pathogenese der beschriebenen Veränderungen wird diskutiert.

Literaturverzeichnis

1. Albrink, M.J., E.B. Man und J.P. Peters: Serum lipids in infectious hepatitis and obstructive jaundice, J. Clin. Invest. 29, 781 (195o)

2. Alexander, R.H., S.J. Friedberg, M.D. Bogdonoff und E.H. Estes: Hepatic cirrhosis: Correlation of clinical severity and abnormality in triglyceride metabolism. Metabolism 12, 197 (1963)

3. Becker, W., W. Rapp, H.G.Schwick und K. Störiko: Methoden zur quantitativen Bestimmung von Plasmaproteinen durch Immunpräzipitation. Z. klin. Chem. u. klin. Biochem. 6 , 113, (1968)

4. Berg, G. und P. Rudolph: Über die Lipidelektrophorese auf Membranfolien. Med. Welt N.F. 17,1;193 (1966)

5. Burchardt, H.: Beiträge zur Kenntniss der Cholesterine. Inaug.-Diss. Rostock 17. Nov. 1889

6. Burstein, M. und J. Samaille, La Presse Medicale 43,974 (1958)

7. Charman, R.C. und R.A. Landowne: Separation of human plasma lipoprotein by electrophoresis on cellulose acetate. Anal. Biochem. 19, 177 (1967)

8. de Lalla, O.F. und Gofman, J.W.: Ultracentrifugal analysis of serum lipoproteins. Methods of Biochem. Anal. 1,459 (1954)

9. Dienstl, F., F. Kuntz und H.A. Maizar: Veränderungen der Plasmaphospholipide bei akuter Hepatitis, Klin. Wschr.44, 967 (1966)

lo. Mc Donald, H.J. und L.P. Ribeiro: Ethylene and propylene glycol in the pre-staining of lipoproteins for electrophoresis. Clin. Chim. Acta 4, 458 (1959)

11. Eder, H.A., E.M. Russ, R.A,R. Pritchett, M.M. Wilber und D.P. Barr: Protein-Lipid relationships in human plasma: in biliary cirrhosis, obstructive jaundice, and acute hepatitis. J. Clin. Invest. 34, 1147 (1955)

12. Eggstein, M.: Eine neue Bestimmung der Neutralfette im Blutserum und Gewebe. II. Mitteilung: Zuverlässigkeit der Methode und andere Neutralfettbestimmungen, Normalwerte für Triglyceride und Glycerin im menschlichen Blut. Klin. Wschr. 44, 267 (1966)

13. Eggstein, M. und F.H. Kreutz: Eine neue Bestimmung der Neutralfette im Blutserum und Gewebe. I. Mitteilung: Prinzip, Durchführung und Besprechung der Methode.Klin.Wschr.44,262(1966)

14. Eggstein, M. und H. Thaler: Blutfette bei Leberkrankheiten. Dtsch. med. Wschr. 96, 8o5 (1971)

15. Fredrickson, D.S., R.I. Levy und R.S. Lees: Fat transport in lipoproteins - an integrated approach to mechanisms and disorders. N. Engl. J. Med. 276, 34, 94, 148, 215, 273 (1967)

16. Furman, R.H. und L.L. Conrad: Ultracentrifugal characterization of the lipoprotein spectrum in obstructive jaundice: Studies of serum lipid relationships in intra- and extrahepatic biliary obstruction. J.Clin.Invest. 36, 713 (1957)

17. Gjone, E. und O.M. Orning: Plasma phospholipids in patients with liver disease: A quantitative thin layer chromatographic study. Scand.J.Clin.Lab.Invest.18, 2o9 (1966)

18. Greiner, S.: Veränderungen von Serumlipiden und Serumlipoproteinen bei Leberkrankheiten. Inaug.-Diss. Marburg 1973

19. Handbook of Chemistry and Physik. The Chemical Rubber Co., Cleveland/Ohio, S.D, 2o7

2o. Hatch, F.T. und R.S. Lees: Practical methods for plasma lipoprotein analysis. Advan. Lipid Res. 6, 1 (1968)

21. Havel, R.J., H.A. Eder und J.H. Bragdon: The distribution and chemical composition of ultracentrifugally separated lipoproteins in human serum. J. clin. Invest. 34, 1345 (1955)

22. Hulley, S.B., S.G. Cook, W.S. Wilson, M.Z. Nichaman, F.T. Hatch und F.T. Lindgren: Quantitation of serum lipoproteins by electrophoresis on agarose gel: Standardization in lipoprotein concentration units (mg/loo ml) by comparison with analytical ultracentrifugation. J. Lipid Res. 12, 42o (1971)

23. Jencks, W.P. und E.L. Durrum: Paper electrophoresis as a quantitative method: The staining of serum lipoproteins. J. Clin. Invest. 34, 1437 (1955)

24. Kellen, J. und A. Jedlovsky: Über erhöhte β-Lipoproteine bei Jugendlichen nach Hepatitis epidemica. Z. inn. Med. 15, 1173 (1960)

25. Klemens, U.H. und J. Schmalbeck: Lipoprotein-Elektrophorese auf Celluloseacetat-Membranen. Z. klin. Chem. u. klin. Biochem. 7, 540 (1969)

26. Klemens, U.H, und J. Schmalbeck: Qualitativer Vergleich der Lipoprotein-Elektrophorese auf Celluloseacetat-Membranen mit der Fraktionierung von Lipoproteinen in der präparativen Ultrazentrifuge. Z. klin. Chem. u. klin. Biochem. 8, 162 (1970)

27. Klemens, U.H. und J. Schmalbeck: Quantitativer Vergleich der Lipoproteinelektrophorese auf Celluloseacetat-Membranen mit der Fraktionierung von Lipoproteinen in der präparativen Ultrazentrifuge. Z. klin. Chem. u. klin. Biochem. 8, 166 (1970)

28. Klör, U., L. Mico und H.H. Ditschuneit: Untersuchungen über das immunologische Verhalten der Plasmalipoproteinfraktionen bei Hyperlipoproteinämien. Symposion 1971 über "Struktur, Stoffwechsel und klinische Aspekte der Lipoproteine des Blutes". Ulm/Donau, 14.-15. Oktober 1971

29. Knorr, D. und I.E. Wehrheim: Über das Verhalten der elektrophoretischen Serum-Lipoproteidfraktionen bei Hepatitis epidemica im Kindesalter. Z. Kinderheilk. 85, 308 (1961)

30. Kohn, J.: A lipoprotein staining method for zone electrophoresis. Nature 189, 312 (1961)

31. Kottke, B.A.: Differences in bile acid excretion. Circulation 40, 13 (1969)

32. Kunkel, H.G. und R.J. Slater: Lipoprotein patterns of serum obtained by zone electrophoresis. J. Clin. Invest. 31, 677 (1952)

33. Laurell, C.-B.: Antigen-antibody crossed electrophoresis. Anal. Biochem. 10, 358 (1965)

34. Laurell, C.-B.: Quantitative estimation of proteins by electrophoresis in agarose gel containing antibodies. Anal. Biochem. 15, 45 (1966)

35. Laurell, C.-B.: Quantitative estimation of proteins by electrophoresis in antibody-containing agarose gel. Protides of the Biol. Fluids 14, 499 (1966)

36. Lees, R.S.: Immunoassay of plasma low-density lipoproteins. Science 169, 493 (197o)

37. Lehnert, U. und U. Spahn: Veränderungen der Serumphospholipide bei Hepatitis infectiosa im Kindesalter. Z. Kinderheilk. 11o, 2o2 (1971)

38. Liebermann, C.,Ber. Dtsch. chem. Ges. 18, 18o3 (1885)

39. Maurer, H.R.: Disk-Elektrophorese: Theorie und Praxis der diskontinuierlichen Polyacrylamidgel-Elektrophorese. Verlag Walter de Gruyter & Co, Berlin 1968

4o. Michaelis, L.: Diethylbarbiturate buffer. J. Biol. Chem. 87, 33 (193o)

41. Mills, G.L., D. Seidel und P. Alaupovic: Ultracentrifugal characterization of a lipoprotein occuring in obstructive jaundice. Clin. Chim. Acta 26, 239 (1969)

42. Phillips, G.B.: The lipid composition of serum in patients with liver disease. J. Clin. Invest. 39, 1639 (196o)

43. Pierce, F.T., J.R. Kimmel und T.W. Burns: Lipoproteins in infectious and serum hepatitis. Metabolism 3, 228 (1954)

44. Ressler, N., R. Springgate und J. Kaufman: A method of lipoprotein electrophoresis. J. Chromatog. 6, 4o9 (1961)

45. Russ, E.M., J. Raymunt und D.P. Barr: Lipoproteins in primary biliary cirrhosis. J. Clin. Invest. 35, 133 (1956)

46. Schenetten, F. : Zur Frage einer Abhängigkeit der Vasosklerose vom β-Lipoprotein-Pool. Symposion 1971 wie Nr.28

47. Schettler, G.: Fettstoffwechselstörungen: Ihre Erkennung und Behandlung. Georg Thieme Verlag Stuttgart 1971

48. Schwick, H.G., K. Störiko und W. Becker: Qualitative Plasmaprotein-Bestimmung durch Immunpräzipitation. Laboratoriumsblätter f. d. med. Diagn. Behringwerke AG, Frankfurt (M), Nr. 3 (1971)

49. Seidel, D.,P. Alaupovic und R.H. Furman: A lipoprotein characterizing obstructive jaundice. I. Method for quantitative separation and identification of lipoproteins in jaundiced subjects. J. Clin. Invest. 48, 1211 (1969)

5o. Seidel, D. und P. Alaupovic: Ein abnormes Low-Density-Lipoprotein bei Cholestase. I. Isolierung und Charakterisierung. Dtsch. med. Wschr. 95, 1774 (197o)

51. Seidel, D., E. A. Schmitt und P. Alaupovic: Ein abnormes Low-Density-Lipoprotein bei Cholestase. II. Bedeutung in der Differentialdiagnose des Ikterus. Dtsch. med. Wschr. 95, 18o5 (197o)

52. Seidel, D., P.Alaupovic und R. H. Furman: Fortschritte in der Analyse der Plasmalipoproteine: Eine neue Möglichkeit zur Differentialdiagnose des Ikterus. Klin. Wschr. 48, 1 (197o)

53. Seidel, D.: Sekundäre Hyperlipoproteinämien. Symposion 1971 wie Nr. 28

54. Spahn, U.: Die freien Fettsäuren des Serums im Verlaufe der Hepatitis infectiosa bei Kindern. Klin. Wschr. 45, 53o (1967)

55. Spahn, U. und U. Eltz: Zum Verhalten des Estercholesterins im Serum bei Hepatitis infectiosa im Kindesalter. Z. Kinderheilk. 1o5, 226 (1969)

56. Stephan, W. und U. Frahm: Quantitative Simultan-Immunelektrophorese. Z. klin. Chem. u. klin. Biochem. 9, 224 (1971

57. Switzer, S.: Plasma lipoproteins in liver disease: I. Immunologically distinct low-density lipoproteins in patients with biliary obstruction. J. Clin. Invest. 46, 1855 (1967)

58. Utermann, G.: Disc-electrophoretic patterns of human serum high density lipoproteins. Clin. Chim. Acta 36, 521 (1972)

59. Vogt, N.: Lipide und Lipoproteine bei akuten und chronischen Lebererkrankungen. Inaug.-Diss. Marburg 1973

60. Watson, D.: A simple method for the determination of serum cholesterol. Clin. Chim. Acta 5, 637 (1960)

Mein herzlicher Dank gilt Frau Prof. Dr. A. Englhardt
für die Überlassung des Themas sowie für ihre Hilfe
bei der Durchführung der Arbeit.

LEBENSLAUF

Am 7. Mai 1947 wurde ich, Michael Ulrich Baumgarten, als Sohn des prakt. Zahnarztes Dr. med. dent. Johannes Baumgarten und seiner Ehefrau Ilse, geb. Buchmann, in Helmstedt geboren.

Von Ostern 1953 bis Ostern 1957 besuchte ich die Volksschule in Helmstedt und wechselte anschließend über auf das dortige Julianum, Gymnasium für Jungen. Ich wählte ab Quarta den lateinischen und ab Obersekunda den neusprachlichen Zweig. Am 28. Februar 1966 bestand ich das Abitur.

Ab Sommersemester 1966 studierte ich an der Philipps-Universität zu Marburg/Lahn Zahnheilkunde. Nach dem Sommersemester 1967 bestand ich das Vorphysikum, nach dem Wintersemester 1968/69 das Physikum. Am 9. Dezember 1971 legte ich mit Erfolg das Staatsexamen ab, am 27. Dezember 1971 erhielt ich meine Approbation.
Anschließend arbeitete ich an meiner Doktorarbeit in der Medizinischen Universitätsklinik in Marburg.

Meine akademischen Lehrer waren:

Amon, Bommer, Dimroth, Haan, Havemann, Hennis, Hering, Heuser, Hort, Hupe, Janke, Karlson, Koransky, Korb, Kühnel, Mahr, Mann, Meyer-Bertenrath, Niemeyer, Pantke, Petry, Pfütz, Riecken, Rodeck, Rohen, Rosemann, Salfeld, Schiff, Schmid, Schmidt, Schnell, Seidel, Siegert, Vogt, Walcher, Zilliken.